

Т.А Борисова, Н.В. Крысанова

## Высвобождение глутамата из цитозольного пула синапсом в условиях экспериментальной гипергравитации

*В условиях экспериментальной модели индуцированной гравитации изучено кальций-независимое высвобождение глутамата из синапсом. Протонофор FCCP нарушает протонный градиент синаптических везикул, вызывает снижение содержания АТФ и повышение  $[Na^+]_p$ , что приводит к увеличению цитозольного пула нейромедиатора и реверсному функционированию глутаматных транспортеров. Обнаружено значительное увеличение стимулированного FCCP (1 мкмоль/л) и KCl (35 ммоль/л) освобождения L-[ $^{14}C$ ]глутамата –  $27,0 \pm 2,2$  и  $35,0 \% \pm 2,3$  % в контроле и в условиях гравитации соответственно ( $P < 0,05$ ). Показано, что стимулированное FCCP, KCl, а также FCCP и KCl высвобождение L-[ $^{14}C$ ]глутамата чувствительно к действию нетранспортируемого ингибитора глутаматных транспортеров DL-трео-β-бензилоксипартата (DL-TBOA), что доказывает непосредственное участие транспортеров глутамата в этом процессе. Транспортируемый ингибитор DL-трео-β-гидроксиаспартат (DL-THA) индуцирует высвобождение глутамата из цитозольного пула синапсом путем гетерообмена, за счет незавершенного транспортного цикла. Показано, что высвобождение L-[ $^{14}C$ ]глутамата, стимулированное FCCP и DL-THA в условиях моделированной гравитации, также существенно выше, чем в контроле. Этот подход совместного применения FCCP, KCl и DL-THA позволил выявить значительные различия функционирования в реверсном режиме глутаматных транспортеров в условиях моделированной гравитации.*

### ВВЕДЕНИЕ

Все живые организмы на Земле эволюционировали под влиянием гравитации. Можно предполагать, что изменение гравитационного воздействия отразится на реализации физиологических функций. Действительно, пребывание астронавтов в условиях микро- и гипергравитации сопровождается нарушением умственных и когнитивных способностей [16, 26, 37]. В настоящее время активно исследуется феномен, который наблюдается в индуцированной центрифугированием гипергравитации, в условиях полета, а также выполнения различных летных маневров. Синдром назван «индуцированная гравитацией потеря сознания» [27, 35, 40, 41]. Состояние, предшествующее

потере сознания, характеризуется амнезией, нарушением сенсорных и когнитивных функций, смятением, замешательством, трудностями в формировании слов. Одной из причин, вызывающих индуцированную гравитацией потерю сознания, считается снижение содержания кислорода в мозгу. Представляется целесообразным подразделить все исследования в области космической физиологии животных на два направления. Одно развивает изучение влияния непосредственно всемирного тяготения на гравичувствительные системы организма, другое уделяет внимание исследованию действия неспецифических стрессовых факторов, сопровождающих пребывание организма в условиях измененной гравитации. Одним из наиболее

© Т.А Борисова, Н.В. Крысанова

влиятельных неспецифических стрессовых факторов, способных вызвать значительные нарушения функционирования мозга, является гипоксия. Мозг чрезвычайно чувствителен к поступлению кислорода. При недостаточном снабжении его кислородом наблюдается нарушение ментальных способностей [1]. В настоящее время в области космической нейробиологии большое внимание уделяется исследованию этого вопроса [7, 8, 24, 27–29, 30, 34, 35, 40, 41]. Однако влияние измененной гравитации до конца не исследовано.

Известно, что глутамат действует как основной возбуждающий нейромедиатор. В то же время его высокие концентрации в синаптической щели приводят к сверхстимуляции постсинаптических рецепторов и являются нейротоксичными. Содержание аминокислоты вне клетки поддерживается на низком нетоксичном уровне за счет быстрого удаления из синаптической щели. Основная функция транспортеров глутамата нейронов и глиальных клеток – поглощение аминокислоты из синаптической щели. По-видимому, транспортеры выполняют сложные функции модуляции нейротрансмиссии [11–15, 17–21, 23, 25, 31–33, 36, 38–39]. При определенных условиях, в основном при развитии патологических состояний, транспортеры глутамата функционируют в реверсном режиме, когда их работа направлена не на поддержание концентрации нейромедиатора на низком уровне, а на перенос его из цитозольного пула в синаптическую щель [11, 15, 19, 21, 23, 25, 31]. В этом случае высвобождение нейромедиатора является кальцийнезависимым процессом. Как показывают термодинамические расчеты, ему способствует увеличение концентрации внеклеточного калия и уменьшение внеклеточного содержания натрия. Кальцийнезависимое высвобождение – основной путь высвобождения глутамата при ишемии, гипоксии и мозговой травме [10, 12, 19, 20, 23]. Гипокси-

ческое поражение нейронов характеризуется увеличением высвобождения глутамата из цитозольного пула посредством реверсного функционирования его транспортеров [15, 18, 21, 25, 31, 32, 33, 38]. Нами показано, что активность транспортеров глутамата снижается после воздействия моделированной гравитации [2–6].

Цель настоящего исследования – изучить кальцийнезависимое высвобождение глутамата из пресинаптических нервных окончаний в контроле и в условиях экспериментальной гипергравитации.

## МЕТОДИКА

Получение синаптосом. Работу проводили на препарате изолированных нервных окончаний головного мозга крыс – синаптосомах. Последние обладают такими характеристиками интактного нервного окончания, как мембранный потенциал, способность к активному накоплению и высвобождению нейромедиаторов при деполяризации плазматической мембраны.

В опытах использовали половозрелых самцов крыс линии Вистар, массой 100–120 г. Гравитационную нагрузку на животных проводили в специальных контейнерах на центрифуге диаметром 5 м при 10 g в течение часа. Животные не теряли сознания и полностью восстанавливались после окончания гравитационной нагрузки. Синаптосомы выделяли дифференциальным центрифугированием и центрифугированием в градиенте плотности фиколла-400, применяя метод Котмана [9] с небольшими модификациями: раствор сахарозы для приготовления градиента фиколла содержал 5 ммоль/л HEPES-NaOH и 0,2 ммоль/л ЭДТА, pH 7,4. Синаптосомы, полученные при фракционировании в градиенте фиколла, разводили 10 объемами 0,32 моль/л сахарозы, 5 ммоль/л HEPES-NaOH, pH 7,4 и центрифугировали при 20000 g в течение

20 мин. Осадок ресуспендировали на льду в стандартном холодном оксигенированном солевом растворе следующего состава (ммоль/л): NaCl – 126, KCl – 5, MgCl<sub>2</sub> – 2, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0, HEPES – 20, d-глюкоза – 10, pH 7,4. Полученную суспензию синапсом (концентрация белка 4 мг/мл) использовали в экспериментах в течение 2–4 ч после получения. В бескальциевую среду добавляли 2 ммоль/л ЭГТА. Все процедуры проводили при 4°C. Концентрацию белка определяли, как описано у Larson [22].

Высвобождение L-глутамата. Для определения высвобождения L-[<sup>14</sup>C]глутамата из синапсом суспензию (концентрация белка 2 мг/мл) в стандартном буфере инкубировали 10 мин при 37°C, затем добавляли 500 нмоль/л L-[<sup>14</sup>C]глутамата и инкубировали еще 10 мин при 37°C, после чего разводили 10 объемами охлажденного стандартного солевого раствора, центрифугировали 10 мин при 4000 g, затем осадок ресуспендировали в том же буфере при 4°C и использовали в эксперименте (концентрация белка 4 мг/мл). Суспензию синапсом разводили стандартным бескальциевым буфером до концентрации 0,5 мг белка/мл. Высвобождение L-[<sup>14</sup>C]глутамата осуществляли следующим образом: 125 мкл синапсом преинкубировали 10 мин при 37°C, добавляли деполяризующий реагент, инкубировали 6 мин и быстро осаждали в микроцентрифуге (20 с при 10000 g). Аликвоты надосадочной жидкости (100 мкл) смешивали со сцинтилляционной жидкостью ACS (1,5 мл) и определяли радиоактивность с помощью счетчика «Tracor Analytic Delta 300». Повышение содержания внеклеточного L-[<sup>14</sup>C]глутамата при инкубации предварительно нагруженных меченым нейромедиатором синапсом при 37°C в течение различных временных интервалов определяли как нестимулированное (базальное) высвобождение L-[<sup>14</sup>C]глутамата. Высвобождение нейромедиатора выражали как процент от обще-

го содержания меченого нейромедиатора. Результаты представлены как среднее значение ± квадратичная ошибка.

Материалы. В экспериментах были использованы фиколл-400 («Serva»), HEPES («Sigma»), ЭДТА («Calbiochem»), d-глюкоза («Sigma»), L-глутамат («Sigma»), L-[<sup>14</sup>C]-глутамат («Amersham»), SDS («Fluka»), NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> (о.с.ч. «Реахим»), сцинтилляционная жидкость ASC («Amersham»).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было показано, что нестимулированное, базальное высвобождение L-[<sup>14</sup>C]глутамата из синапсом не изменялось после воздействия моделированной гравитации. Экспериментальные результаты представлены ниже с вычетом данных о базальном высвобождении. Деполяризация плазматической мембраны 35 ммоль/л KCl в бескальциевой среде приводила к высвобождению нейромедиатора из цитозольного пула. При изучении KCl-стимулированного высвобождения L-[<sup>14</sup>C]глутамата в бескальциевой среде обнаружено незначительное его увеличение – с 7,7 % ± 2,8 % в контроле до 11,0 % ± 2,0 % общего содержания метки в синапсом после воздействия моделированной гравитации. То есть наблюдалась тенденция к увеличению высвобождения глутамата из цитозольного пула после гравитационной нагрузки. Для детального исследования высвобождения L-[<sup>14</sup>C]глутамата нервными окончаниями был использован конкурентный несубстратный ингибитор глутаматного транспорта DL-трео-β-бензилоксиаспартат (DL-TBOA), который проявлял дозозависимый ингибиторный эффект на процесс высвобождения как в контроле, так и в условиях моделированной гравитации, что позволило предположить, что высвобождение в обоих случаях шло при участии глутаматных транспортеров, функционирующих в реверсном режиме.

Протонофор FCCP нарушает протонный градиент синаптических везикул и митохондриальной мембраны, вызывает деполаризацию плазматической мембраны, снижение содержания АТФ и повышение  $[Na^+]_i$ . Эти изменения приводят к высвобождению глутамата из синаптических везикул, увеличению цитозольного пула нейромедиатора и реверсному функционированию работы глутаматных транспортеров. 1 мкмоль/л FCCP *per se* вызывает кальцийнезависимое высвобождение глутамата из синапсом. Разницу в FCCP-стимулированном высвобождении между нормой и гравитацией наблюдали только в начальный период действия FCCP. За 30 с высвобождается  $5,0 \pm 1,0$  и  $9,0 \% \pm 1,2 \%$  общего содержания метки в синапсоммах в контроле и после гипергравитации соответственно ( $P < 0,05$ ), через 2 мин разница нивелируется (рис. 1). В настоящей работе было исследовано KCl-стимулированное высвобождение L-[ $^{14}C$ ]глутамата после 5 мин инкубации синапсомом с 1 мкмоль/л FCCP. При этом через 10 мин наблюдали значительное увеличение высвобождения L-[ $^{14}C$ ]глутамата –  $27,0 \pm 2,2$  и  $35,0 \% \pm 2,3 \%$  в контроле и после гравитационной нагрузки соответственно ( $P < 0,05$ ; рис. 2,а). Было показано, что стимулированное FCCP, FCCP+KCl высвобождение L-[ $^{14}C$ ]глутамата чувствительно к действию ингибитора глутаматных транспортеров DL-TBOA, что доказывает непосредственное участие транспортеров в этом процессе. Таким образом, было показано что FCCP-индуцированное высвобождение глутамата из синаптических везикул, увеличение цитозольного пула нейромедиатора и нарушение баланса между цитозольным и везикулированным пулами приводит к увеличению стимулированного де-

поляризацией кальцийнезависимого высвобождения глутамата. Причем в условиях моделированной гравитации высвобождение глутамата из цитозольного пула значительно выше, чем в контроле.

Конкурентный ингибитор транспортеров глутамата DL-трео- $\beta$ -гидроксиаспартат (DL-TНА) индуцирует высвобождение глутамата из цитозольного пула синапсомом путем гетерообмена, из-за незавершенного транспортного цикла. Показано, что высвобождение L-[ $^{14}C$ ]глутамата за 10 мин, вызванное 100 мкмоль/л DL-TНА и 1 мкмоль/л FCCP в условиях моделированной гравитации, существенно выше, чем в контроле ( $44,0 \pm 2,0$  в контроле и  $52,0 \% \pm 2,3 \%$  при гипергравитации; см. рис. 2,б). Таким образом, результаты, полученные с применением DL-TНА, также свидетельствуют об увеличении высвобождения глутамата из цитозольного пула после индуцированной центрифугированием гипергравитации.

Подход совместного применения FCCP, KCl и DL-TНА позволил выявить значительные различия функционирования в реверсном режиме глутаматных транспортеров в условиях моделированной гравитации. Как выше было сказано, увеличение высвобождения глутамата из цитозольного пула является маркером гипоксического поражения нейронов [15, 18, 21, 25, 31, 32,

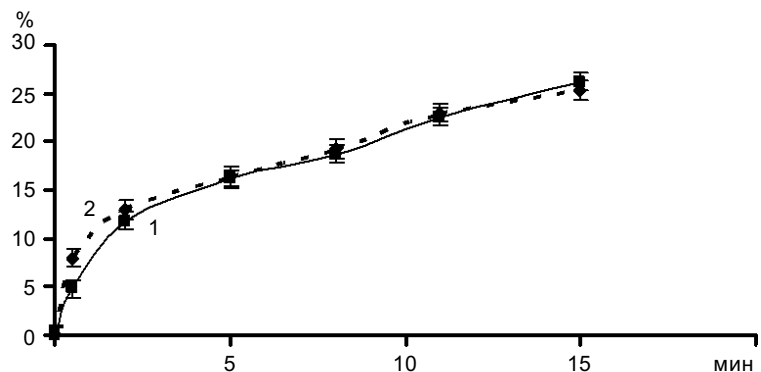


Рис. 1. Кальцийнезависимое высвобождение L-[ $^{14}C$ ]глутамата, индуцированное 1 мкмоль/л FCCP, из синапсомом контрольных животных (1) и животных после гравитационной нагрузки (2). Здесь и на рис. 2 по оси ординат – высвобождение глутамата

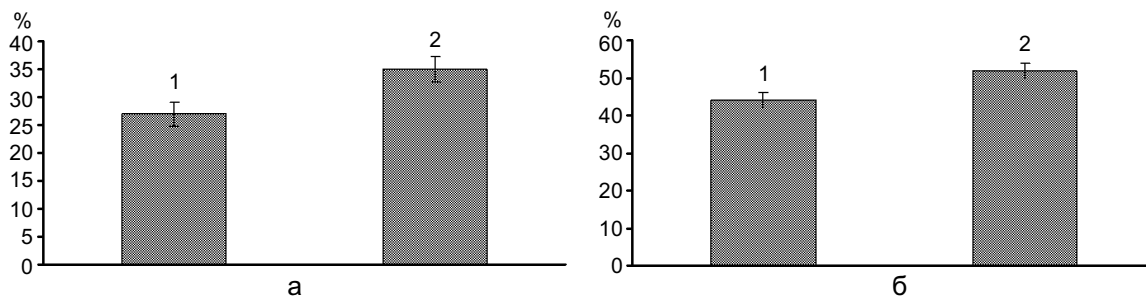


Рис. 2. Индуцированное 1 мкмоль/л FCCP и 35 ммоль/л KCl (а) высвобождение L-[<sup>14</sup>C]глутамата в бескальциевой среде за 10 мин из синапсом контрольных животных (1) и животных после гравитационной нагрузки (2) и 1 мкмоль/л FCCP и 100 мкмоль/л DL-трео-β-гидроксиаспартата (б)

33, 38]. Увеличенное высвобождение глутамата может приводить к нарушениям умственных и когнитивных способностей, а в дальнейшем и к нейротоксичности и судорогам в условиях измененной гравитации.

**T.A. Borisova, N.V. Krisanova**

#### ENLARGED CA<sup>2+</sup>-INDEPENDENT RELEASE OF GLUTAMATE FROM SYNAPTOSOMES UNDER CENTRIFUGE-INDUCED HYPERGRAVITY MODELING

The release of L-[<sup>14</sup>C]glutamate via Na<sup>+</sup>-dependent glutamate transporters functioned in the reverse mode was investigated in cortical synaptosomes under centrifuge-induced hypergravity. The protonophore carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenyl-hydrazone (FCCP) induced increase in [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>, depolarized the plasma membrane, dissipated the proton gradient across synaptic vesicles and mitochondrial membrane, caused a fall in both the ATP level and the ATP/ADP ratio. 35 mM KCl-stimulated L-[<sup>14</sup>C]glutamate release from synaptosomes preliminary treated with 1 μM FCCP considerably increased from 27.0±2.2 % to 35.0±2.3 % of total accumulated synaptosomal label after centrifuge-induced hypergravity as compared to control animals (P<0.05). We found the competitive nontransportable glutamate transporter inhibitor DL-threo-β-benzyloxyaspartate to inhibit FCCP and high KCL-stimulated release of L-[<sup>14</sup>C]glutamate. The release would be expected to occur via plasma membrane glutamate transporters. Transportable inhibitor of glutamate transporters-DL-threo-beta-hydroxyaspartate (DL-THA) induced heteroexchange of L-[<sup>14</sup>C]glutamate from enlarged by FCCP cytosolic pool of the neurotransmitter. DL-THA-evoked release of L-[<sup>14</sup>C]glutamate was also increased significantly after hypergravity. Combined application of KCl, DL-THA and FCCP unmasked dramatic changes in the activity of the glutamate transporters functioning in the reverse mode after centrifuge-induced G-loading.

*Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bloogg S., Gennser M. Cerebral blood flow velocity and psychomotor performance during acute hypoxia // *Aviation, Space and Environmental Med.* – 2006. – **77**. – P. 107–111.
- Borisova T.A., Krisanova N.V., Himmelreich N.H. Artificial gravity and functional plasticity of nerve system L-[<sup>14</sup>C]-glutamate uptake by nerve terminals from rat cerebellum and cerebral hemispheres under hypergravity stress // *J. Gravitat. Physiol.* – 2002. – **9**(1) – P. 25–26.
- Borisova T.A., Krisanova N.V., Himmelreich N.H. Exposure of animals to artificial gravity conditions leads to the alteration of the glutamate release from rat cerebral hemispheres nerve terminals // *Adv. Space Res.* – 2004. – **33**. – P.1362–1367.
- Borisova T.A., Himmelreich N.H. Effects of the inhibitors on glutamate uptake by nerve terminals after exposure of rats to centrifuge – induced hypergravity // *J. Gravitat. Physiol.* – 2004. – **11** (2). – P.37–38.
- Borisova T.A., Himmelreich N.H. Centrifuge-Induced Hypergravity: [<sup>3</sup>H]GABA and L-[<sup>14</sup>C]glutamate Uptake, Exocytosis and Efflux Mediated by High-Affinity, Sodium-Dependent Transporters // *Adv. Space Res.* – 2005. – **36**. – P.1340–1345.
- Borisova T.A., Krisanova N.V., Himmelreich N.H. Artificial gravity loading increases the effects of the glutamate transporter inhibitors on the glutamate release and uptake in rat brain nerve terminals // *Micrograv. Sci. and technol.* – 2006. – XVIII-3/4. – P.230–233.
- Cai Q., Liu H., Zhan Z. et al. A study of apoptosis and related gene bcl-2 and p53 expression in hippocampus of rats exposed to repeated +Gz // *Space Med. Eng. (Beijing)*. – 2000. – **13**. – P.263–266.
- Cidon S., Sihra T. Characterization of an H<sup>+</sup>-ATPase in Rat Brain Synaptic Vesicles // *JBC.* – 1989. – 264. – P.8281–8288.
- Cotman C. W. Isolation of synaptosomal and synaptic plasma membrane fractions // *Methods Enzymol.* – 1974. – **31**. – P.445–452.
- Cousin M.A., Robinson P.J. Two mechanisms of synaptic vesicle recycling in rat brain nerve terminals // *J. Neurochem.* – 2000. – **75**. – P.1645–1653.

11. Danbolt N.C. Glutamate uptake // *Progr. Neurobiol.* – 2001. – 65. – P.1–105.
12. Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain // *J. Neurochem.* – 1984. – 42. – P.1–11.
13. Gegelashvili G., Schousboe A. High affinity glutamate transporters: regulation of expression and activity // *Mol. Pharmacol.* – 1997. – 52. – P.6–15.
14. Gegelashvili G., Dehnes Y., Danbolt N. et al. The high-affinity glutamate transporters GLT1, GLAST and EAAT4 are regulated via different signalling mechanisms // *Neurochem. Int.* – 2000. – 37. – P.163–170.
15. Gemba T., Oshima T., Ninomiya M. Glutamate efflux via the reversal of the sodium-dependent glutamate transporter caused by glycolytic inhibition in rat cultured astrocytes // *Neuroscience.* – 1994. – 63. – P.789–795.
16. Guinan M., Horowitz J., Fuller C. Effects of hyperdynamic fields on input-output relationships and long-term potentiation in the rat hippocampus // *J. Gravitat. Physiol.* – 1998. – 5. – P.31–40.
17. Headley P.M., Grillner S. Excitatory amino acids and synaptic transmission: the evidence for a physiological function // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1990. – 11. – P.205–211.
18. Ikemoto A., Bole D., Ueda T. Glycolysis and glutamate accumulation into synaptic vesicles // *JBC.* – 2003. – 278. – P.5929–5940.
19. Jabaudon D., Shimamoto K., Yasuda-Kamatani Y. et al. Inhibition of uptake unmasks rapid extracellular turnover of glutamate of nonvesicular origin // *PNAS USA.* – 1999. – 96. – P.8733–8738.
20. Jensen J. B., Pickering D. S., Schousboe A. Depolarization-induced release of [<sup>3</sup>H]D-aspartate from GABAergic neurons caused by reversal of glutamate transporters // *Int. J. Dev. Neurosci.* – 2000. – 18. – P.309–315.
21. Kauppinen R.A., McMahon H.T., Nicholls D.G. Ca<sup>2+</sup>-dependent and Ca<sup>2+</sup>-independent glutamate release, energy status and cytosolic free Ca<sup>2+</sup> concentration in isolated nerve terminals following metabolic inhibition: possible relevance to hypoglycaemia and anoxia // *Neuroscience.* – 1988. – 27. – P.175–182.
22. Larson E., Howlett B., Jagendorf A. Artificial reductant enhancement of the Lowry method for protein determination // *Analit. Biochem.* – 1986. – 155. – P.243–248.
23. Levi G., Raiteri M. Carrier-mediated release of neurotransmitters // *Trends Neurosci.* – 1993. – 16. – P.415–419.
24. Liu H., Cai Q., Ji G. et al. Changes of mRNA expression of IL-1 beta and TNF-alpha in rat brain after repeated exposure to +Gz // *Space Med. Eng. (Beijing).* – 2000. – 13. – P.371–373.
25. Longuemare M.C., Swanson R.A.. Excitatory amino acid release from astrocytes during energy failure by reversal of sodium-dependent uptake // *J. Neurosci. Res.* – 1995. – 40. – P.379–386.
26. Manzey D., Lorenz B. Mental performance during short-term and long-term spaceflight // *Brain Res. Rev.* – 1998. – 28. – P.215–221.
27. Matsuda T., Gotoh T., Tanaka K. et al. Vestibulo-sympathetic reflex mediates the pressor response to hypergravity in conscious rats: contribution of the diencephalons // *Brain Res.* – 2004. – 1028. – P.140–147.
28. Rahmann H., Slenzka K., Kortje K. et al. Synaptic plasticity and gravity: ultrastructural, biomedical and physico-chemical fundaments // *Adv. Space. Res.* – 1992. – 12. – P.63–72.
29. Raymond J., Dememes D., Blanc E. et al. Development of the vestibular system in microgravity. – In: *The Neurolab Spacelab Mission: Neuroscience Research in Space.* – 2003. – P.143–149.
30. Rijken P., Boonstra J., Verkleij A. et al. Effects of gravity on the cellular response to epidermal growth factor // *Adv. Space Biol. Med.* – 1994. – 4. – P.159–188.
31. Roettger V., Lipton P. Mechanism of glutamate release from lateral sclerosis // *N. Engl. J. Med.* – 1996. – 326. – P.1464–1468.
32. Rossi D.J., Oshima T., Attwell D. Glutamate release in D.G., Presynaptic receptors and the control of glutamate severe brain ischemia is mainly by reversed uptake // *Nature.* – 2000. – 403. – P.316–321.
33. Sanchez-Prieto J., Gonzalez P. Occurrence of a large Ca<sup>2+</sup>-independent release of glutamate during anoxia in isolated nerve terminals (synaptosomes) // *J. Neurochem.* – 1988. – 50. – P.1322–1324.
34. Shahed A., Son M., Lee J. et al. Expression of c-fos, c-jun and HSP70 mRNA in rat brain following high acceleration stress // *J. Gravitat. Physiol.* – 1996. – 3. – P.49–56.
35. Shender B., Forster E., Hrebien L. et al. Acceleration-induced near-loss of consciousness: the „A-loss syndrome» // *Aviation, Space and Environment. Med.* – 2003. – 74. – P.1021–1028.
36. Shioi J., Ueda T. Artificial imposed electrical potential drive L-glutamate uptake into synaptic vesicles of bovine cerebral cortex // *Biochem. J.* – 1990. – 267. – P.63–68.
37. Signore A., Mandillo S., Rizzo A. et al. Hippocampal gene expression is modulated by hypergravity // *Eur. J. Neurosci.* – 2004. – 19. – P.667–677.
38. Szatkowski M., Barbour B., Attwell D. Non-vesicular release of glutamate from glial cells by reversed electrogenic glutamate uptake // *Nature.* – 1990. – 348. – P.443–446.
39. Tretter L., Chinopoulos C., Adam-Vizi V. Plasma membrane depolarization and disturbed Na<sup>+</sup> homeostasis induced by the protonophore carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenyl-hydrazone in isolated nerve terminals // *Molec. Pharmacol.* – 1998. – 53. – P.734–74.
40. Whinnery J. Observations on the neurophysiologic theory of acceleration induced loss of consciousness // *Aviation, Space and Environment. Med.* – 1989. – 69. – P.869–874.
41. Wilson G., Reis A., Tripp L. EEG correlates of G-induced loss of consciousness. *Aviation // Ibid.* – 2005. – 76. – P.19–27.

*Ин-т біохімії ім. А.В.Палладина НАН України, Київ*  
*E-mail: tborisov@biochem.kiev.ua*